



.9)

(11) Publication number:

11171886 A

Generated Document.

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN21) Application number: **09337311**(51) Int'l. Cl.: **C07D403/04 A61K 31/415**22) Application date: **08.12.97**

(30) Priority:

(43) Date of application
publication: **29.06.99**(84) Designated contracting
states:(71) Applicant: **MITSUI CHEM INC**(72) Inventor: **MATSUNAGA AKIO
MITA YUKI
EDATSUGI HAJIME
MATSUBA YASUHIRO**

(74) Representative:

54)

**PYRROLYLBENZIMIDAZOLE
DERIVATIVE HAVING
AMIDINE OR GUANIDINE IN
SIDE CHAIN**

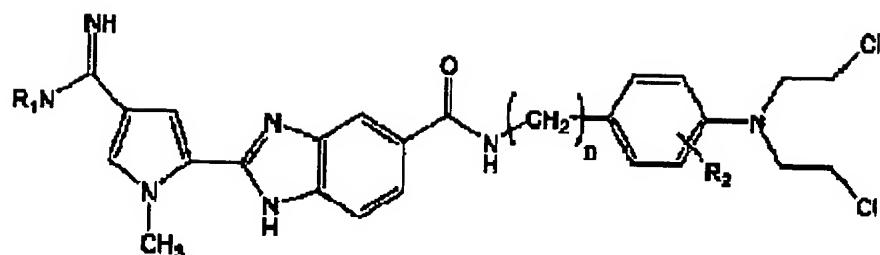
57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject new compound having the possibility for acting on a DNA, usability thereof as an anticancer agent and amidine or guanidine directly bound to the 4-position of pyrrole.

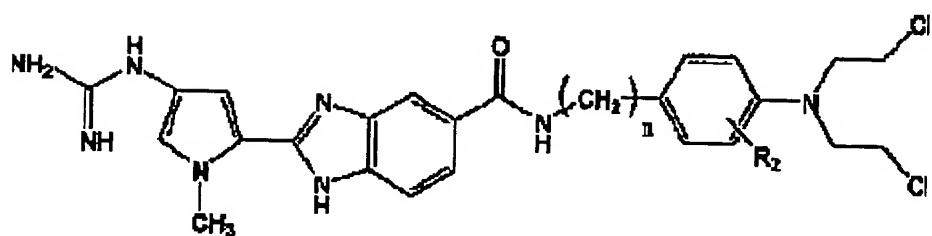
SOLUTION: This compound is represented by formula I [R1 is a 1-8C alkyl or the like or denotes piperidine or the like by R1N; (n) is 0-3; R2 is H, 1-8C alkyl or the like] or formula II, e.g. 1H-2-(1-methyl-4-amidinopyrrolyl) benzimidazole-5-[N-[4-N,N-bis(2-chloroethyl)amino]phenyl] arboxamide. The compound is obtained by reacting 1-methyl-4-yanopyrrole-2-aldehyde with methyl 3-diaminobenzoate in nitrobenzene, hydrolyzing the methyl ester into a carboxylic acid, then binding the resultant carboxylic acid to an aniline derivative using a suitable condensing

gent, subsequently blowing hydrochloric acid gas thereinto in thanol, converting the cyano group into the corresponding imidate and further blowing ammonia gas thereinto.

COPYRIGHT: (C)1999,JPO



三



三

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平11-171886

(43)公開日 平成11年(1999)6月29日

(51)Int.Cl.⁵

C 07 D 403/04
A 61 K 31/415

識別記号

2 0 7
ADU

F I

C 07 D 403/04
A 61 K 31/415

2 0 7
ADU

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 8 頁)

(21)出願番号 特願平9-337311

(22)出願日 平成9年(1997)12月8日

(71)出願人 000005887

三井化学株式会社

東京都千代田区霞が関三丁目2番5号

(72)発明者 松永 明夫

千葉県茂原市東郷1144番地 三井化学株式
会社内

(72)発明者 三田 由紀

千葉県茂原市東郷1144番地 三井化学株式
会社内

(72)発明者 枝次 一

千葉県茂原市東郷1900番地1 三井製薬工
業株式会社内

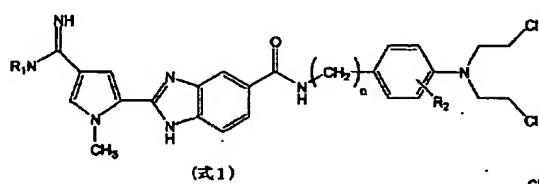
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アミジンまたはグアニジンを側鎖にもつピロリルベンズイミダゾール誘導体

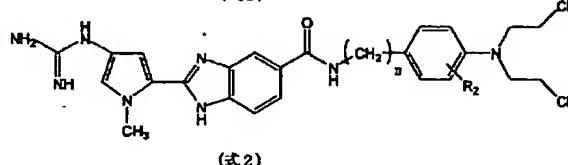
(57)【要約】

【課題】 DNAに作用し、抗癌剤として用いられる新規物質の創製。

【解決手段】 一般式1または2で示される化合物あるいは薬理学的に許容される塩。



(式1)

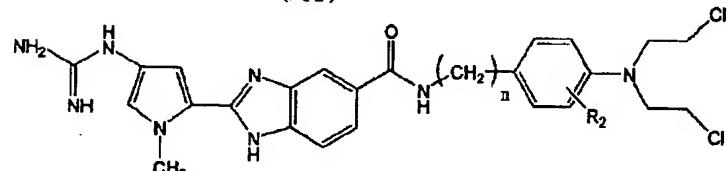
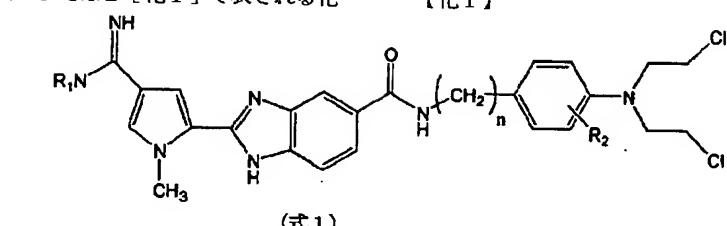


(式2)

【効果】 上記の化合物は抗癌剤として用いられる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式1または2〔化1〕で表される化



(式中、R₁は炭素数1～8の直鎖または分枝したアルキル基、ジアルキルアミノ基で置換された炭素数1～8のアルキル基、あるいはR₁Nでビペリジン、N-メチルビペラジン、モルフォリンを示し、nは0～3の整数を示す。R₂は水素原子、炭素数1～8の直鎖または分枝したアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、ジアルキルアミノ基で置換された炭素数1～3のアルキル鎖、ハロゲン原子、シアノ基、トリフルオロメチル基、アミジノ基を示す。)。

【請求項2】 1H-2-(1-メチル-4-アミジノピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]]カルボキサミドおよび薬理学的に許容される塩。

【請求項3】 1H-2-(1-メチル-4-グアニジノピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]]カルボキサミドおよび薬理学的に許容される塩。

【請求項4】 請求項1～3いづれかに記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する抗癌剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、DNAに結合し抗腫瘍作用を示す新規なピロリルベンズイミダゾール誘導体である化合物とそれを含む医薬組成物、特に抗癌剤への利用に関する。

【0002】

【従来の技術】DNAに結合して作用する抗癌剤は多くある。その中で、DNAをアルキル化するアルキル化剤、DNAの塩基対の間にはまり込むインターフレーテーなどが代表であり、シクロホスファミド、アドリアマイシン等の抗癌剤が知られており、実際に臨床に用いられている。DNAへの結合には、この他にマイナーグル

合物および薬理学的に許容される塩
〔化1〕

ープへの結合という様式があることも、すでによく知られている。ところがこのマイナーグループへの結合を示す抗癌剤は未だ研究段階である。その代表的な例を挙げればディスタマイシンの誘導体、デュオカルマイシンの誘導体などがある。また、DNAに結合する物質としてピロリルベンズイミダゾールを骨格とする化合物群が特開平09-003065号公報に開示されている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明の課題は、DNAに作用し抗癌剤として用いられる可能性のある新規物質の創製である。

【0004】

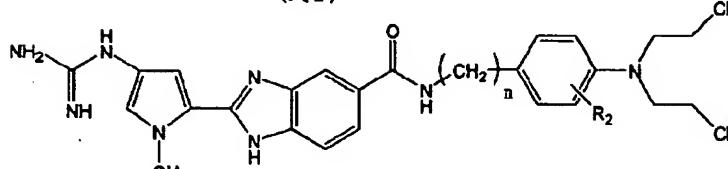
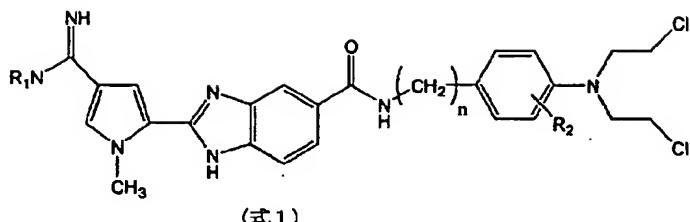
【課題を解決するための手段】本研究では、特開平09-03065号公報にあるピロリルベンズイミダゾールを基本骨格として新規な化合物を探索した。特開平09-003065号公報の中には側鎖としてアミジンやグアニジンが用いられている。これらは先に示したディスタマイシンにも見られる置換基であり、DNAとの結合を強める働きがあると考えられている。ディスタマイシンにおいても、また前述の特許中でも、側鎖としてのアミジンやグアニジンがメチレン鎖を介してアミド結合でピロールと結合していることは明白な特徴である。

【0005】われわれは、前述の特許の中では全く検討されていないピロールの4位にアミジンあるいはグアニジンが直結している新規の誘導体を合成した。それらの生物活性を調べた結果、腫瘍細胞に対する増殖阻害活性を示す化合物を見出した。すなわち、われわれは、以下に示す化合物群が新規な構造を有し、かつ抗癌剤としての有用性をもつことを見出し、この発明を完成させた。すなわち本発明は、

【0006】〔1〕 一般式1または2〔化2〕で表される化合物および薬理学的に許容される塩

【0007】

〔化2〕



(式中、R₁ 炭素数1～8の直鎖または分枝したアルキル基、ジアルキルアミノ基で置換された炭素数1～8のアルキル基、あるいはR₁Nでビペリジン、N-メチルピペラジン、モルフォリンを示し、nは0～3の整数を示す。R₂は水素原子、炭素数1～8の直鎖または分枝したアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、ジアルキルアミノ基で置換された炭素数1～3のアルキル鎖、ハロゲン原子、シアノ基、トリフルオロメチル基、アミノ基を示す。)であり、また、

【0008】[2] 1H-2-(1-メチル-4-アミジノピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]]カルボキサミドおよび薬理学的に許容される塩であり、また、

【0009】[3] 1H-2-(1-メチル-4-グアニジノピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]]カルボキサミドおよび薬理学的に許容される塩であり、また、

【0010】[4] [1]～[3] いざれかに記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する抗癌剤である。

【0011】

【発明の実施の形態】以下、本発明をさらに詳細に説明する。炭素数1～8の直鎖または分枝したアルキル基とは、メチル基、エチル基、n-プロピル基、iso-プロピル基、n-ブチル基、iso-ブチル基、t-ブチル基、n-ペンチル基、n-ヘキシル基、n-ヘプチル基、n-オクチル基等が望ましい。炭素数1～8のアルコキシ基とは、炭素数1～8の直鎖または分枝したアルキル基が酸素原子と結合した基を示す。

【0012】ジアルキルアミノ基で置換された炭素数1～8のアルキル鎖とは、ジメチルアミノ基、ジエチルア

ミノ基、ジプロピルアミノ基、エチルメチルアミノ基、メチルプロピルアミノ基、エチルプロピルアミノ基で置換されたメチル基、エチル基、n-プロピル基、n-ブチル基、n-ペンチル基、n-ヘキシル基、n-ヘプチル基、n-オクチル基等が望ましい。

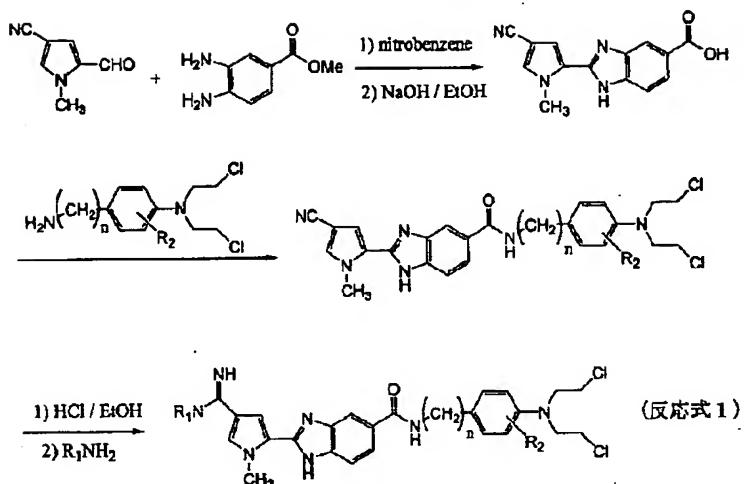
【0013】ハロゲン原子とはF、Cl、Br、Iである。DCCはN,N'-ジシクロヘキシリカルボジイミドであり、CDIはN,N'-カルボニルジイミダゾールであり、EDCIは1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩であり、DECPはジエチルシアノホスホネイトであり、HOBtは1-ヒドロキシベンゾトリアゾールである。

【0014】DMFはジメチルホルムアミド、DMSOはジメチルスルホキサイド、IPAはイソプロパノールを表す。Pd/Cはパラジウム付き活性炭を表し、通常そのパラジウムは5～10%である。

【0015】次にこれらの化合物の合成法を説明する。1-メチル-4-シアノピロール-2-アルデヒドと3,4-ジアミノ安息香酸メチルをニトロベンゼン中、140～170°Cで1～50時間加熱する。メチルエステルをカルボン酸に加水分解し、次に適当な縮合剤を用いて、アニリン誘導体と結合する。このときの縮合剤としては、DCC、CDI、EDCI、DECPが望ましく、あるいはそれらにHOBt等の縮合助剤を加えることもできる。次に、エタノール中で塩酸ガスを吹き込みシアノ基を対応するイミデートとし、ついでアンモニアガスを吹き込むことによってアミジンに導くことができる。このとき、アンモニアガスを吹き込む代わりに適当なアミノ化合物を反応させることにより置換アミジン誘導体を合成することができる（反応式1）【化3】

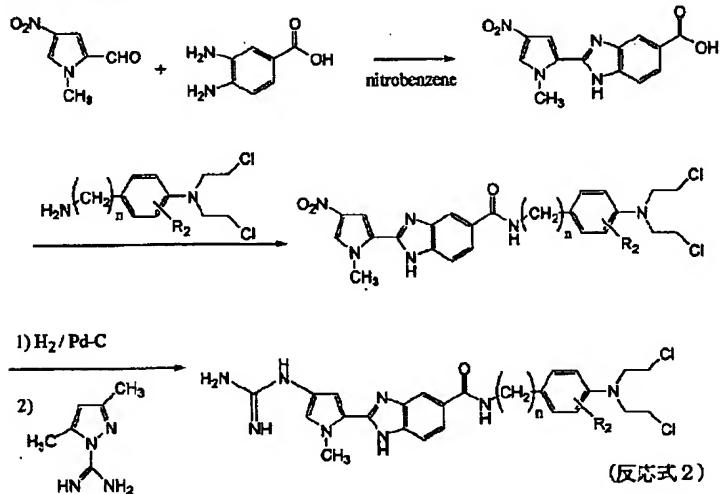
【0016】

【化3】



【0017】(式中、R₁は炭素数1～8の直鎖または分枝したアルキル基、ジアルキルアミノ基で置換された炭素数1～8のアルキル基、あるいはR₁Nでピペリジン、N-メチルピペラジン、モルフォリンを示し、nは0～3の整数を示す。R₂は水素原子、炭素数1～8の直鎖または分枝したアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、ジアルキルアミノ基で置換された炭素数1～3のアルキル鎖、ハロゲン原子、シアノ基、トリフルオロメチル基、アミジノ基を示す。)。

【0018】また、1-メチル-4-ニトロピロール-2-アルデヒドと3,4-ジアミノ安息香酸をニトロベンゼン中、



【0020】(式中、R₂は水素原子、炭素数1～8の直鎖または分枝したアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、ジアルキルアミノ基で置換された炭素数1～3のアルキル鎖、ハロゲン原子、シアノ基、トリフルオロメチル基、アミジノ基を示し、nは0～3の整数を示す。)。

【0021】本発明の化合物は適当な酸との塩の形で用いることができる。用いられる酸としては、薬理的に可能であれば特に制限はないが、塩酸、臭化水素酸、ヨウ

140～170°Cで1～50時間加熱する。次に適当な縮合剤を用いて、アニリン誘導体と結合する。このときの縮合剤としては、DCC、CDI、EDCI、DECPが望ましく、あるいはそれらにHOBT等の縮合助剤を加えることもできる。次にニトロ基を還元して、トリエチルアミン存在下3,5-ジメチルピラゾール-1-カルボキサミドと反応させてグアニジンとすることができる(反応式2)【化4】

【0019】

【化4】

化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、カンファースルホン酸、蟻酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、フマル酸、マレイン酸、蔥酸、マロン酸、こはく酸などが例示できる。

【0022】これらの化合物の塩は4級塩もあり得るが、当然それらも含まれる。本発明の化合物は抗癌剤として用いることができる。適用される癌種は、白血病、骨肉腫、乳癌、卵巣癌、胃癌、大腸癌、肺癌、頭頸部癌

等である。これらの化合物は治療目的に応じて、各種の製剤によって投与される。製剤化は公知の方法により可能である。

【0023】剤形としては、各種の形態が治療目的に応じて選択でき、固体製剤としては、錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤等、液剤としては、溶液としての注射剤の他、懸濁剤、シロップ剤、乳剤等、その他の製剤としては、坐剤等が考えられる。

【0024】錠剤の形態に成形するに際しては、担体としてこの分野で従来よりよく知られている各種のものを広く使用することができる。その例としては、乳糖、デンプン、結晶セルロース等の賦形剤、水、アルコール類、单シロップ、デンプン液、ゼラチン溶液、メチルセルロース溶液、ヒドロキシプロピルセルロース溶液等の結合剤、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、デンプン等の崩壊剤、ステアリン酸、カカオバター、水素添加油等の崩壊抑制剤、第4級アンモニウム塩基、ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤、グリセリン、デンプン等の保湿剤、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸、結晶性セルロース、軽質無水ケイ酸等の吸着剤、タルク、ステアリン酸塩等の滑沢剤等である。さらに錠剤の場合、必要に応じ通常の剤皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠あるいは二層錠、多層錠とすることができる。

【0025】カプセル剤は常法に従い通常有効成分化合物を上記で例示した各種の担体と混合して硬質ゼラチンカプセル、軟質カプセル等に充填して調製される。

【0026】注射剤として調製する場合、液剤、乳剤および懸濁剤の形態に成形するに際しては、希釈剤としてこの分野において汎用されているもの、例えば水、アルコール類、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、植物油類等が使用できる。さらに本発明の化合物に水を加え、適切な界面活性剤の存在下に懸濁性水溶液、さらにはポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60(HCO-60)等の界面活性剤等を用いた乳濁液として使用される。なお、食塩、ブドウ糖あるいはグリセリンを医薬製剤中に含有させてもよく、また通常の溶解補助剤、緩衝剤、無痛化剤等を添加してもよい。

【0027】坐剤の形態に成形するに際しては、担体として従来公知のものを広く使用することができる。その例としては、例えばポリエチレングリコール、カカオ脂、高級アルコール、高級アルコールのエステル類、ゼラチン、半合成グリセライド等を挙げることができる。さらに必要に応じて着色剤、保存剤、香料、風味剤、甘味剤等や他の医薬品を医薬製剤中に含有させることもできる。

【0028】投与方法は特に制限はないが、各種製剤形態、患者の年齢、性別、その他の条件、疾患の程度に応じた方法で投与される。通常1日～1ヶ月の間に1～数

回投与され、これを繰り返し実施することもできる。また、投与量は用法、患者の年齢、性別、その他の条件、疾患の程度に応じて適宜考慮されるが、成人1回あたり有効成分の含有量は1～1,000mgである。

【0029】抗癌剤の現在の技術水準から言って、汎用されるアドリアマイシン、シスプラチン等の薬剤でも作用と副作用の分離は十分とは言えない。本発明の化合物の副作用は、抗癌剤として用いることが可能なレベルである。

【0030】

【実施例】さらに本発明を以下の実施例によって説明する。ただし、本発明はこれらの例に限定されるものではない。()内に示した化合物番号は、試験例に示した化合物番号に一致する。また、N,N-ビス(2-クロロエチル)-1,4-フェニレンジアミン塩酸塩、1H-2-(1-メチル-4-ニトロピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]]カルボキサミドは、特開平09-003065号公報にある実施例を参考に別途合成した。

【0031】実施例1

(反応1) 1H-2-(4-シアノ-1-メチルピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-カルボン酸メチル
4-シアノ-1-メチル-2-ピロールカルボキシアルデヒド 1.50g (11.2mmol)、3,4-ジアミノ安息香酸メチル 1.86g (11.2mmol) をニトロベンゼン 100mL に溶解し、150°Cオイルバス中 38.5 時間加熱攪拌した。室温まで放冷し、生じた固体を沪取し IPA で洗浄することにより標題化合物 2.19g (7.81mmol, 69.8%) を薄茶色結晶として得た。

m.p. : > 250°C

NMR (DMSO-d₆) δ: 8.26-8.10(m, 1H), 7.93(d, 1H, J=1.5), 7.85(d, 1H), 7.71-7.55(m, 1H), 7.29(d, 1H), 4.14(s, 3H), 3.88(s, 3H)

【0032】(反応2) 1H-2-(4-シアノ-1-メチルピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-カルボン酸

1H-2-(4-シアノ-1-メチルピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-カルボン酸メチル 0.60g (2.13mmol) をエタノール 15mL、1N 水酸化ナトリウム水溶液 5mL に懸濁し、60°Cオイルバス中、加熱攪拌した。減圧下エタノールを溜去し、残った水溶液を 4N 塩酸にて酸性にし、生じた固体を沪取、水洗することにより標題化合物 0.48g (1.8mmol, 84.5%) を得た。

m.p. : > 240°C

NMR (DMSO-d₆) δ: 8.16(s, 1H), 7.93(d, 1H), 7.85(d, 1H), 7.65(d, 1H), 7.31(s, 1H), 4.15(s, 3H)

【0033】(反応3) 1H-2-(4-シアノ-1-メチルピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]]カルボキサミド

1H-2-(4-シアノ-1-メチルピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-カルボン酸0.40g(1.50mmol), N,N-ビス(2-クロロエチル)-1,4-フェニレンジアミン塩酸塩0.41g(1.52mmol)をDMF 10mLに溶解し、窒素気流下氷冷攪拌した。トリエチルアミン0.63mL(4.52mmol, 3.0eq)、DECP 0.34mL(2.24mmol, 1.5eq)を順に加え、4時間攪拌後一晩放置した。減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(Kieselgele 60、クロロホルム/メタノール=4%)に付し、メタノールより結晶化することにより、標題化合物0.34g(0.71mmol, 47.1%)を茶白色結晶として得た。

mp: 140-150°C (dec.)

NMR(DMSO-d₆) δ: 10.06(s, 0.4H), 10.00(s, 0.6H), 8.38(s, 0.6H), 8.08(s, 0.4H), 7.93(s, 1H), 7.93-7.82(m, 1H), 7.75-7.58(m, 3H), 7.29(d, 1H), 6.75(d, 2H), 4.16(s, 3H), 3.73(s, 8H)

【0034】(反応4) 1H-2-(1-メチル-4-アミジノピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]]カルボキサミド 2塩酸塩(化合物番号1)

1H-2-(1-メチル-4-アミジノピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]]カルボキサミド 0.17g(0.35mmol)をエタノール10mLに懸濁し、食塩を加えた氷浴中攪拌しながら、塩酸ガスを30分かけて飽和するまで吹き込んだ(内温-5~10°C)。その氷浴をはずし、さらに5時間攪拌した後減圧下濃縮した。残渣にジエチルエーテル10mLを加え3回デカントした後エタノール13mLに懸濁し、氷冷下攪拌しながらアンモニアガスを40分かけて飽和するまで吹き込んだ。

【0035】氷浴をはずしさらに2時間攪拌した後、一晩放置した。減圧下濃縮し、残渣をゲルろ過カラムクロマト(Sephadex LH-20、メタノール)に付し、溶出フラクションの濃縮残渣にメタノールを加え、溶け残る固体を沪取することにより標題化合物0.14g(0.24mmol, 70.0%)を黄色結晶として得た。

mp: >240°C

NMR(DMSO-d₆) δ: 10.14(s, 1H), 9.10(bs, 2H), 8.74(bs, 2H), 8.31(s, 1H), 8.11(s, 1H), 7.95(d, 1H), 7.73(d, 1H), 7.65(d, 2H), 7.58(s, 1H), 6.76(d, 2H), 4.17(s, 3

H), 3.74(s, 8H)

IR(KBr) cm⁻¹: 3214, 1638, 1594, 1518, 1330, 1184, 818

元素分析: 計算値(C₂₄H₂₅C₁₂N₇O·2HCl·2H₂O) C: 47.46, H: 5.14, N: 16.14、分析値C: 47.32, H: 4.74, N: 16.05

【0036】実施例2

1H-2-(1-メチル-4-アミノモルホリノメチルピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]]カルボキサミド 2塩酸塩(化合物番号2) 1H-2-(1-メチル-4-シアノピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]]カルボキサミド 0.30g(0.62mmol)をエタノール20mLに懸濁し、食塩を加えた氷浴中攪拌しながら塩酸ガスを30分かけて飽和するまで吹き込んだ(内温-5~10°C)。氷浴をはずし、さらに3時間攪拌した後減圧下濃縮した。残渣にジエチルエーテル15mLを加え2回デカントした後、ジエチルエーテル15mLを加え固体を沪取した。沪取物をエタノール10mLに懸濁し、窒素雰囲気下モルホリン0.17mL(1.9mmol, 3.0eq)を室温で加えた。一晩攪拌後、生じた固体を沪取し、イミデート体0.23g(0.44mmol)を得た。

【0037】これをエタノール10mLに懸濁し、モルホリン0.4mL(4.6mmol, 10eq)を添加した。室温で6時間攪拌後、生じた固体を沪取した(固体1)。沪液に4N塩酸/ジオキサンを加え減圧下濃縮し、残渣にメタノールを加え生じた固体を沪取した(固体2)。固体1、2をあわせてメタノールに懸濁し4N塩酸/ジオキサンを添加後濃縮した。残渣をジエチルエーテルにてスラッジングすることにより、標題化合物0.14g(0.21mmol, 47.0%)を吸湿性粉末として得た。

NMR(DMSO-d₆) δ: 10.16(s, 1H), 9.36(s, 1H), 9.12(s, 1H), 8.32(s, 1H), 7.95(d, 1H), 7.85(s, 1H), 7.74(d, 1H), 7.65(d, 2H), 7.53(s, 1H), 6.76(d, 2H), 4.23(s, 3H), 3.80(s, 8H), 3.74(s, 8H)

IR(KBr) cm⁻¹: 3397, 1654, 1595, 1518, 1331, 1183, 1114, 760

【0038】実施例3

1H-2-[1-メチル-4-[(N¹-n-ブチル)アミジノ]ピロール-2-イル]ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]]カルボキサミド 2p-トルエンスルホン酸塩(化合物番号3)

1H-2-(1-メチル-4-シアノピロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-

ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]カルボキサミド0.31g(0.64mmol)をエタノール15mLに懸濁し、食塩を加えた氷浴中攪拌しながら塩酸ガスを30分かけて飽和するまで吹き込んだ(内温-5~10°C)。氷浴をはずし、さらに2時間攪拌した後減圧下濃縮した。残渣にジエチルエーテル15mLを加え固体を沪取した。沪取物をエタノール15mLに懸濁し、窒素雰囲気下n-ブチルアミン0.32mL(3.24mmol, 5.0eq)を室温で加えた。一晩放置後、減圧下濃縮した。

【0039】残渣をゲル沪過カラムクロマト(Sephadex LH-20、メタノール)に付した。溶出フラクションを減圧下濃縮し、残渣をメタノールに溶解し、p-トルエンスルホン酸0.24g(1.26mmol, 2.0eq)を加え濃縮した。残渣にメタノールを加え析出した固体を沪取することにより、標題化合物7.0mg(0.078mmol, 12.2%)を吸湿性粉末として得た。

NMR(DMSO-d₆) δ:10.04(s,1H), 9.32(s,1H), 9.07(s,1H), 8.59(s,1H), 8.26(s,1H), 7.92(s,1H), 7.89(d,1H), 7.68(d,1H), 7.64(d,2H), 7.48(d,4H,J=8.1), 7.47(s,1H), 7.11(d,4H,J=8.1), 6.77(d,2H), 4.17(s,3H), 3.73(s,8H), 3.36(m,2H), 2.29(s,6H), 1.60(m,2H), 1.39(m,2H), 0.94(t,3H)

IR(KBr) cm⁻¹: 3124, 2961, 1625, 1598, 1517, 1458, 1330, 1181, 1123, 1035, 1011, 816, 682

【0040】実施例4

1H-2-[1-メチル-4-[N¹-[3-(N,N-ジメチルアミノ)プロピル]アミジノ]ビロール-2-イル]ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]カルボキサミド3塩酸塩(化合物番号4)

1H-2-(1-メチル-4-シアノビロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]カルボキサミド0.30g(0.62mmol)をエタノール15mLに懸濁し、食塩を加えた氷浴中攪拌しながら、塩酸ガスを30分かけて飽和するまで吹き込んだ(内温-5~10°C)。氷浴をはずし、さらに3時間攪拌した後減圧下濃縮した後、残渣にジエチルエーテル15mLを加え固体を沪取した。沪取物をエタノール15mLに懸濁し、窒素雰囲気下N,N-ジメチル-1,3-ブロバンジアミン0.39mL(3.12mmol, 5.0eq)を室温で加えた。

【0041】一晩放置後、減圧下濃縮し、残渣をゲル沪過カラムクロマト(Sephadex LH-20、メタノール)に付した。溶出フラクションを減圧下濃縮し、残渣をメタノールに溶解後4N塩酸ジオキサンを添加し減圧下濃縮乾固した。過剰の塩酸を除くため再びゲル沪

過カラムクロマトに付し、残渣をジエチルエーテルで固化することにより、標題化合物0.127g(0.18mmol, 29.0%)を吸湿性粉末として得た。

NMR(DMSO-d₆) δ:10.14(s,1H), 9.80(m,1H), 9.39(s,1H), 9.02(s,1H), 8.31(s,1H), 8.15(s,1H), 7.95(d,1H), 7.73(d,1H), 7.65(d,2H), 7.64(s,1H), 6.77(d,2H), 4.18(s,3H), 3.74(s,8H), 3.54(m,2H), 3.17(m,2H), 2.77(d,6H), 2.06(m,2H)

IR(KBr) cm⁻¹: 3395, 3104, 1618, 1595, 1518, 1458, 1331, 1182, 1147, 817

【0042】実施例5

1H-2-(1-メチル-4-ニアノビロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]カルボキサミド2塩酸塩(化合物番号5)

1H-2-(1-メチル-4-ニトロビロール-2-イル)ベンズイミダゾール-5-[N-[4-[N,N-ビス(2-クロロエチル)アミノ]フェニル]カルボキサミド0.32g(0.64mmol)をDMF5mLメタノール4mLに溶解し、4N塩酸0.16mLを加え、10%Pd/C(wet)0.19gを触媒として常圧水添により対応するアミノ体へ導いた。

【0043】このもののDMF溶液を窒素気流下氷冷攪拌し、トリエチルアミン0.11mL(0.79mmol, 1,2eq)、3,5-ジメチルピラゾール-1-カルボキサミド0.4g(1.93mmol, 3.0eq)を順に加え、室温に戻し6時間攪拌後一晩放置した。生じた固体を沪別後減圧下濃縮し、メタノールに溶解して、4N塩酸ジオキサンを加えて留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(Kieselgele 160、クロロホルム/メタノール=16%)に、続いてゲルろ過カラムクロマト(Sephadex LH-20、メタノール)に付し、ジエチルエーテルより固化し、標題化合物9.3mg(0.16mmol, 29.8%)を黄色固体として得た。

NMR(DMSO-d₆) δ:10.17(s,1H), 9.57(s,1H), 8.29(s,1H), 7.97(d,1H), 7.75(m,1H), 7.64(d,1H), 7.64(d,2H), 7.41(bs,3H), 7.30(s,1H), 7.10(s,1H), 6.77(d,2H), 4.13(s,3H), 3.74(s,8H)

元素分析: 計算値(C₂₄H₃₆C₁₃N₈O, 2HCl·3H₂O) C: 45.07, H: 5.35, N: 17.50, Cl: 22.14, 分析値C: 45.07, H: 5.03, N: 17.20, Cl: 22.24

【0044】試験例

これらの化合物の抗腫瘍活性について説明する。試験の方法は、以下の通りである。96穴培養プレートにマウスB16メラノーマ細胞をまき、1日後に化合物を加え、さらに3日間5%CO₂中37度で培養した。Cancer Res. 1988年48巻589~601頁

に示された方法に準じて、50%の増殖抑制を起こすのに必要な化合物濃度を求めた。結果を表1【表1】に示す。

【0045】

【表1】

表1：抗腫瘍活性

化合物番号 50%阻止作用を示す薬物濃度(μg/mL)

化合物番号	50%阻止作用を示す薬物濃度(μg/mL)
1	3.7
5	3.5
【0046】製剤例1（錠剤）	し等の工程を経て均一な光沢の錠剤を得た。
化合物1 30g	【0047】製剤例2（注射剤）
乳糖 68g	化合物1 1g
結晶セルロース 20g	プロピレングリコール 1,000mL
ステアリン酸マグネシウム 2g	上記の製剤処方に従い、本発明化合物を秤量し、プロピレングリコールに溶解し、滅菌操作を行った。これを5mLずつアンプルに封入、5mg注射剤を製造した。
上記の製剤処方に従い、本発明化合物1（有効成分）、乳糖、結晶セルロースおよびステアリン酸マグネシウムを量り取り、よく混合した。これを打錠機により製錠し、1錠あたり120mg（化合物30mg含有）の直径7mmの円形の素錠を得た。さらに被覆、着色、艶出	【0048】 【発明の効果】 本発明の化合物はDNAに作用し、抗癌剤として用いることができる。

フロントページの続き

(72)発明者 松葉 康浩
 千葉県茂原市東郷1900番地1 三井製薬工業株式会社内

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)